



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets <sup>7</sup> :  A61K 33/14		A1	(11) Numéro de publication internationale: <b>WO 00/07605</b>
			(43) Date de publication internationale: 17 février 2000 (17.02.00)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/01916		(81) Etats désignés: AE, AL, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN, CR, CU, CZ, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KP, KR, LC, LK, LR, LT, LV, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, SL, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ZA, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).	
(22) Date de dépôt international: 3 août 1999 (03.08.99)			
(30) Données relatives à la priorité:  98/10043 5 août 1998 (05.08.98) 60/096,318 12 août 1998 (12.08.98)		FR US	
(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): RHONE-POULENC RORER S.A. [FR/FR]; 20, avenue Raymond Aron, F-92160 Antony (FR).		Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i>	
(72) Inventeurs; et			
(75) Inventeurs/Déposants (US seulement): TOUTAIN, Hervé [FR/FR]; 11, rue Grange Dame Rose, F-78140 Velizy-Villacoublay (FR). GUFFROY, Magali [FR/FR]; 41, rue d'Estienne d'Orves, F-94700 Maisons-Alfort (FR).			
(74) Mandataire: LOBJOIS, Françoise; Rhône-Poulenc Rorer S.A., Direction Brevets, 20, avenue Raymond Aron, F-92165 Antony Cedex (FR).			

(54) Title: USE OF CAMPTOTHECIN DERIVATIVES, WITH REDUCED GASTROINTESTINAL TOXICITY

(54) Titre: UTILISATION DE DERIVES DE LA CAMPTOTHECINE, AVEC UNE TOXICITE GASTRO-INTESTINALE REDUITE

## (57) Abstract

The invention concerns the use of camptothecin for preparing medicines for treating cancers of the gastrointestinal tract, provoking fewer gastrointestinal side effects, characterised in that a sodium chloride solution is administered while or before said medicine is administered.

## (57) Abrégé

Utilisation de dérivés de la camptothécine pour la préparation de médicaments destinés aux traitements des cancers de la voie gastro-intestinale, provoquant de moindres effets secondaires gastro-intestinaux, caractérisée en ce qu'une solution de chlorure de sodium est administrée pendant ou avant l'administration dudit médicament.

**UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publant des demandes internationales en vertu du PCT.

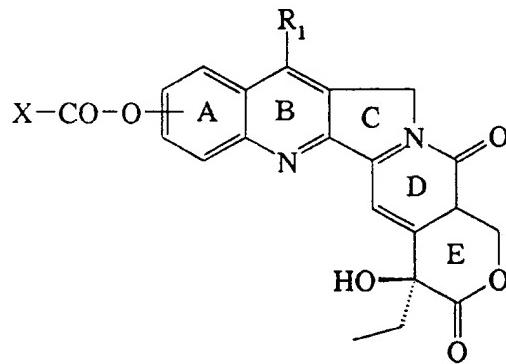
AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun			PT	Portugal		
CN	Chine	KR	République de Corée	RO	Roumanie		
CU	Cuba	KZ	Kazakhstan	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LC	Sainte-Lucie	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LI	Liechtenstein	SE	Suède		
DK	Danemark	LK	Sri Lanka	SG	Singapour		
EE	Estonie	LR	Libéria				

UTILISATION DE DERIVES DE LA CAMPTOTHECINE, AVEC UNE  
TOXICITE GASTRO-INTESTINALE REDUITE

La présente invention concerne l'utilisation de dérivés de la camptothécine, sans entraîner d'effets secondaires d'intolérance gastro-intestinale, ou avec diminution des 5 effets secondaires gastro-intestinaux. La présente invention concerne également l'utilisation de solutions de chlorure de sodium pour la diminution des effets secondaires gastro-intestinaux entraînés par l'administration de dérivés de la camptothécine.

Il est connu que l'administration de dérivés de la camptothécine provoque de 10 nombreux effets secondaires. Notamment au niveau du tractus gastro-intestinal, ils provoquent le plus souvent des vomissements et des diarrhées très graves pouvant conduire à l'interruption du traitement.

Dans le brevet européen EP 137145 ont été décrits des dérivés de camptothécine de formule générale :



15

dans laquelle notamment  $R_1$  est hydrogène, halogène ou alcoyle,  $X$  est un atome de chlore ou  $NR_2R_3$  pour lequel  $R_2$  et  $R_3$  identiques ou différents peuvent représenter un atome d'hydrogène, un radical alcoyle éventuellement substitué, un carbocycle ou un hétérocycle éventuellement substitués, ou des radicaux alcoyle (éventuellement substitués) formant avec l'atome d'azote auquel ils sont attachés, un hétérocycle contenant éventuellement un autre hétéroatome choisi parmi O, S et/ou  $NR_4$ ,  $R_4$  étant 20 un atome d'hydrogène ou un radical alcoyle et dans laquelle le groupement  $X-CO-O-$

est situé en position 9, 10 ou 11 du cycle A. Ces dérivés de camptothécine sont des agents anticancéreux, inhibiteurs de topoisomérase I, parmi lesquels l'irinotécan, pour lequel X-CO-O- est [4-(1-pipéridino)-1-pipéridino]carbonyloxy, est un principe actif particulièrement efficace sur les tumeurs solides et notamment le cancer colorectal.

- 5 Dans la demande de brevet EP 74256 ont également été décrits d'autres dérivés de camptothécine qui sont également mentionnés comme agents anticancéreux, notamment des dérivés de structure analogue à la structure donnée ci-dessus et dans laquelle X-CO-O- est remplacé par un radical -X'R' pour lequel X' est O ou S et R' est un atome d'hydrogène, un radical alcoyle ou acyle. D'autres dérivés de camptothécine ont aussi été décrits par exemple dans les brevets ou demandes de brevets EP 56692, EP 88642, EP 296612, EP 321122, EP 325247, EP 540099, EP 737686, WO 9003169, WO 9637496, WO 9638146, WO 9638449, WO 9700876, US 7104894, JP 57 116015, JP 57 116074, JP 59 005188, JP 60 019790, JP 01 249777, JP 01246287, JP 91/12070 ou dans Canc. Res., 38 (1997) Abst. 1526 ou 95 (San Diego - 12-16 avril), Canc. Res., 55(3), 603-609 (1995) ou AFMC Int. Med. Chem. Symp. (1997) Abst. PB-55 (Séoul - 27 juillet-1 août).
- 10
- 15

Les dérivés de la camptothécine sont habituellement administrés par voie injectable, plus particulièrement par voie intraveineuse sous forme de solution stérile ou d'une émulsion. Les dérivés de la camptothécine peuvent être également administrés par voie orale, sous forme de compositions solides ou liquides.

20

Les dérivés de camptothécine peuvent aussi être administrés en combinaison avec d'autres agents anticancéreux comme par exemple le cisplatine, l'oxaliplatine, le Tomudex®, le Taxotère®, le 5-fluorouracyl et les inhibiteurs de thymidilate synthase.

Malheureusement, parmi les effets secondaires cliniques liés au traitement par des dérivés de la camptothécine, on note particulièrement l'apparition de diarrhées (de niveau 3 ou 4, de syndrome cholinergique, de nausées ou de vomissements. En particulier chez 38 % des patients des diarrhées sévères sont observées, qui peuvent mettre la vie des patients en danger, par déshydratation et/ou infection associée.

25

De nombreuses stratégies ont été mises en oeuvre pour lutter contre la toxicité intestinale due à l'administration du principe actif et la diminuer, mais sans succès jusqu'à présent. Il en résulte que les dérivés de camptothécine sont limités à un emploi par des oncologistes très expérimentés et chez seulement certaines catégories 5 de malades pouvant les supporter.

Il a maintenant été trouvé, et c'est ce qui fait l'objet de la présente invention, que l'on pouvait obtenir une protection vis à vis des lésions gastro-intestinales induites par un traitement par des dérivés de la camptothécine, grâce à l'administration d'une solution de chlorure de sodium. La protection résulte dans la diminution voire la suppression 10 spécifique des effets secondaires gastro-intestinaux sans que l'exposition systémique au principe actif ou l'activité antitumorale soit diminuée.

La présente invention concerne l'utilisation de chlorure de sodium pour la préparation d'un agent destiné à diminuer ou supprimer les effets secondaires gastro-intestinaux induits par l'administration de dérivés de la camptothécine. Selon l'invention l'agent 15 destiné à diminuer ou supprimer les effets secondaires gastro-intestinaux induits par l'administration de dérivés de la camptothécine est une solution aqueuse de chlorure de sodium.

La protection est obtenue par administration d'une solution de chlorure de sodium simultanément à l'administration du dérivé de camptothécine, ou bien plusieurs jours 20 avant puis simultanément à l'administration du dérivé de camptothécine.

Cet effet surprenant présente une conséquence tout à fait favorable, et notamment permet d'éviter les interruptions de traitement liées aux effets secondaires gastro-intestinaux trop sévères.

Selon l'invention la solution de chlorure de sodium utilisée est une solution aqueuse 25 dont la concentration est comprise entre 4 et 13 g/l. Elle est administrée par voie orale.

De préférence, la solution de chlorure de sodium est utilisée à la concentration de 0,9 g/l.

La solution de chlorure de sodium est préparée selon les méthodes habituelles par dissolution du chlorure de sodium dans de l'eau (eau purifiée, eau stérile par exemple). Elle peut comprendre en outre d'autres agents tels que notamment des agents édulcorants ou aromatisants.

- 5 La solution de chlorure de sodium peut être administrée à raison de 5 à 10 ml/kg/administration une ou deux fois par jour, de 5 jours avant le début du traitement à 1 jour après l'arrêt du traitement pour une durée de traitement par le dérivé de camptothécine comprise entre 1 et 5 jours consécutifs. Selon un autre mode d'administration, la solution de chlorure de sodium est administrée à raison de 5 à 10  
10 ml/kg/administration une ou deux fois par jour pendant la durée du traitement, de préférence à raison de 10 ml/kg/administration deux fois par jour, pour une durée de traitement par le dérivé de camptothécine comprise entre 1 et 14 jours consécutifs. De préférence la solution de chlorure de sodium est utilisée selon ce deuxième mode d'administration.
- 15 Le dérivé de camptothécine est administré par voie injectable, de préférence intraveineuse, ou par voie orale.

Lorsque le dérivé de camptothécine est administré par voie intraveineuse, ces compositions peuvent également contenir des adjuvants, en particulier des agents mouillants, isotonisants, émulsifiants, dispersants et stabilisants. L'irinotécan (CPT-  
20 11) est notamment administré en solution dans un milieu pour injection intraveineuse, à des doses comprises entre 175 à 500 mg/m<sup>2</sup>.

Les dérivés de la camptothécine peuvent être aussi administrés par voie orale, sous forme de compositions solides comme par exemple des gélules dures de gélatine ou de matrice hydrophile semi-solide. Ils peuvent aussi être administrés sous forme de  
25 comprimés, de pilules, de gélules, de capsules, de poudres ou de granulés. De préférence les compositions orales peuvent être des comprimés. Dans toutes ces compositions, le produit actif est mélangé notamment à un ou plusieurs diluants ou adjuvants inertes, tels que des sucres, des dérivés de sucres ou des macromolécules hydrophiles, notamment le saccharose, le lactose, le glucose, le maltose, le

D-fructose, le sorbitol, des amidons comme l'amidon de blé, l'amidon de maïs ou de riz, la cellulose et ses dérivés comme l'éthyl ou la méthylcellulose, l'hydroxyéthylcellulose, l'hydroxypropylcellulose, la méthylhydroxyméthylcellulose, la méthylhydroxypropylcellulose ou la carboxyméthylcellulose par exemple, ou les 5 gommes comme la gomme arabique, la gomme adragante, la gomme guar, les alginates, les carraghénates ou la dextrine par exemple, ou des protéines, des produits de synthèse comme la polyvinylpyrrolidone, des PEG de haut poids moléculaire, ou encore tels que des produits minéraux comme les silices colloïdales ou les silicates. Ces compositions peuvent comprendre des substances autres, comme par exemple des 10 lubrifiants tels que le stéarate de magnésium ou un enrobage destiné à une libération contrôlée. Ils peuvent également être administrés sous forme de solutions pharmaceutiquement acceptables, de suspensions, d'émulsions, de sirops et d'élixirs contenant des diluants inertes tels que l'eau ou des huiles comme l'huile de paraffine. Ces compositions peuvent également comprendre des substances autres que les 15 diluants, tels que des produits mouillants, édulcorants ou aromatisants comme notamment des sucres ou des polyols.

Il est entendu que les kits de présentation de la formulation de dérivé de camptothécine et d'un agent à base de chlorure de sodium, destiné à diminuer ou supprimer les effets secondaires gastro-intestinaux induits par l'administration de 20 dérivés de la camptothécine, entrent également dans le cadre de la présente invention..

Toute forme de kits de présentation peuvent convenir, notamment, à titre d'exemple, des présentations sous forme de double flaconnage ou de flaconnage multiples, des présentations sous forme de flacon contenant le dérivé de camptothécine et d'ampoule(s) contenant l'agent, des présentations sous forme de poche de perfusion 25 contenant le dérivé de camptothécine et de flacon(s) ou d'ampoule(s) contenant l'agent, des présentations dans lesquelles intervient une présentation orale comprenant le dérivé de la camptothécine et un ou plusieurs flacons ou ampoules comprenant l'agent. Il est entendu que dans les flacons ou ampoules ci-dessus le chlorure de sodium peut se trouver à l'état de poudre à diluer, ou à l'état de solution, notamment 30 de solution prête à l'emploi.

Etudes expérimentales :

La présente invention a été mise en évidence lors de différentes études réalisées chez la souris et le chien dans les conditions décrites ci-après.

Préparation d'une solution injectable :

- 5 Une solution pour injection à base de chlorhydrate d'irinotécan trihydraté est préparée, à raison de 20 mg/ml en présence des constituants suivants :

• chlorhydrate d'irinotécan trihydraté	.....20 mg
• D-sorbitol	.....45 mg
• acide lactique	.....0,9 mg
• chlorure de sodium	.....qs pH = 3,5
• Eau pour préparations injectables	.....qs 1ml

1/ Etudes expérimentales chez la souris1.1/ Etude I

- Evaluation de l'effet protecteur d'une solution de chlorure de sodium administrée par 10 voie orale sur la toxicité intestinale du CPT-11 administré par voie intraveineuse.

Des souris mâles CD1 (agées de 5 à 6 semaines) séparés en deux groupes de 10, reçoivent, dans chacun des 2 groupes, une injection intraveineuse (20 ml/kg à raison de 0,5 ml/minute) d'une solution aqueuse de CPT-11 dans du chlorure de sodium à 9 g/l à la dose de 40 mg/kg (environ 120 mg/m<sup>2</sup> de surface corporelle) pendant 5 jours consécutifs du jour 6 au jour 10. Cette période de traitement est suivie d'une période de 3 jours sans traitement (jusqu'au jour 13). Dans l'un des groupes, les souris reçoivent en sus une solution aqueuse de chlorure de sodium à 9 g/l à un volume de 20 ml/kg/jour (c'est-à-dire 10 ml/kg/administration, 2 fois par jour à environ 10 heures d'intervalle) par voie orale pendant 10 jours consécutifs (jours 1 à 10) 15 (groupe CPT-11/NaCl). Les animaux du second groupe ne reçoivent pas de chlorure de sodium à 9 g/l par voie orale (groupe CPT-11). 20

La mortalité et les signes cliniques sont observées tous les jours. Le poids corporel est relevé aux jours 1, 6, 11 et 13. Les souris sont euthanasiées et autopsiées au jour 13. Le tractus gastrointestinal complet est prélevé sur toutes les souris. Celui des souris ayant survécu jusqu'à la fin de la période d'observation est soumis à un examen 5 microscopique.

- La mortalité liée à l'administration de CPT-11 observée aux jours 6 et 7 est observée chez 7/15 souris dans le groupe CPT-11 et chez seulement 2/10 souris dans le groupe CPT-11/NaCl. Les diminutions d'activité motrice, les tremblements, les convulsions et/ou les difficultés respiratoires liées à l'administration de CPT-11 sont observés de 10 manière occasionnelle après l'administration de CPT-11. Des pertes de poids corporel sont observées dans les groupes CPT-11 et CPT-11/NaCl pendant la durée du traitement avec le CPT-11. La perte de poids corporel est plus importante dans le groupe CPT-11 que dans le groupe CPT-11/NaCl et persiste après la fin du traitement dans le groupe CPT-11.
- 15 La nature des lésions microscopiques observées dans l'intestin correspond à celles attendues avec un agent anticancéreux. Les lésions prédominent dans l'intestin grêle pour les deux groupes. Ces lésions globalement modérées à marquées se caractérisent par une perte de cryptes et un raccourcissement des villosités. Les lésions intestinales sont moins sévères dans le groupe CPT-11/NaCl, en particulier, des pertes de cryptes 20 minimales ne sont observées que de façon occasionnelle.

En conclusion, l'administration orale d'une solution isotonique de chlorure de sodium (9 g/l) à 10 ml/kg/administration 2 fois par jour (20 ml/kg/jour) pendant 5 jours avant, et pendant l'administration intraveineuse de CPT-11 pendant 5 jours prévient la survenue des lésions histopathologiques intestinales induites par le CPT-11.

25 **1.2/ Etude II**

Evaluation de l'effet protecteur de différent régimes d'administration d'une solution de chlorure de sodium par voie orale sur la toxicité intestinale du CPT-11

Des souris mâles CD1 (agées de 5 ou 6 semaines) sont divisées en 5 groupes de 10 animaux et reçoivent une injection intraveineuse (20 ml/kg à raison de 0,5 ml/minute) d'une solution aqueuse de CPT-11 dans du chlorure de sodium à 9 g/l à la dose de 40 mg/kg (environ 120 mg/m<sup>2</sup> de surface corporelle) pendant 5 jours consécutifs du 5 jour 6 au jour 10. Une solution de chlorure de sodium à 9 g/l est administrée deux fois par jour à raison de 10 ml/kg/administration (à environ 10 heures d'intervalle) du jour 1 au jour 10 pour le groupe 1, deux fois par jour à raison de 5 ml/kg/administration du jour 1 au jour 10 pour le groupe 2, une fois par jour à raison de 20 ml/kg/administration du jour 1 au jour 10 pour le groupe 3, deux fois par jour à 10 raison de 10 ml/kg/administration du jour 6 au jour 10 pour le groupe 4. Les animaux du groupe 5 ne reçoivent pas de solution de chlorure de sodium à 9 g/l.

La mortalité et les signes cliniques sont observées tous les jours. Le poids corporel est mesuré aux jours 3, 6, 10 et 13. Les souris sont euthanasiées et autopsiées au jour 13. Le tractus gastrointestinal complet est prélevé sur toutes les souris. Celui des souris 15 ayant survécu jusqu'à la fin de la période d'observation est soumis à un examen microscopique.

Les signes cliniques observés dans tous les groupes sont similaires à ceux rapportés dans l'étude précédente (étude I). Une diminution de poids corporel est observée dans tous les groupes.

20 Les lésions microscopiques observées dans l'intestin correspondent à celles attendues avec un agent anticancéreux. Les lésions prédominent dans l'intestin grêle dans tous les groupes. Les lésions intestinales sont moins sévères dans les groupes ayant reçus une solution de chlorure de sodium à 9 g/l par voie orale que dans le groupe traité par le CPT-11 seul. Par contre, l'incidence et la sévérité des lésions intestinales sont 25 identiques dans les groupes 1 à 4 ayant reçus une solution de chlorure de sodium à 9 g/l par voie orale avec un régime d'administration différent.

En conclusion, l'administration orale d'une solution isotonique de chlorure de sodium (9 g/l) une ou deux fois par jour à différents volumes d'administration (5 to 20 ml/kg/administration) avant et pendant ou uniquement pendant l'administration

intraveineuse de CPT-11 pendant 5 jours prévient de façon comparable la survenue des lésions histopathologiques intestinales induites par le CPT-11.

### 1.3/ Etude III

Evaluation de l'effet d'une solution isotonique de chlorure de sodium administrée par 5 voie orale, sur la toxicité intestinale et systémique du CPT-11 et sur la toxicocinétique du CPT-11 et de son principal métabolite, le SN-38.

Des souris mâles CD1 (agées de 5 à 6 semaines) sont séparés en trois groupes de 10. Les animaux de 2 groupes reçoivent une injection intraveineuse (20 ml/kg à raison de 0,5 ml/minute) d'une solution aqueuse de CPT-11 dans du chlorure de sodium à 9 g/l 10 à la dose de 40 mg/kg (environ 120 mg/m<sup>2</sup> de surface corporelle) pendant 5 jours consécutifs du jour 1 au jour 5. Cette période de traitement est suivie d'une période de 3 jours sans traitement (jusqu'au jour 8). Dans l'un de ces deux groupes, les souris reçoivent en plus une solution aqueuse de chlorure de sodium à 9 g/l à un volume de 20 ml/kg/jour (c'est à dire 10 ml/kg/administration, 2 fois par jour à environ 15 10 heures d'intervalle) par voie orale pendant 5 jours consécutifs (jours 1 à 5) (groupe CPT-11/NaCl). Les animaux du second groupe ne reçoivent pas de chlorure de sodium à 9 g/l par voie orale (groupe CPT-11). Dans le troisième groupe n'ayant pas reçu de CPT-11, les souris reçoivent une solution aqueuse de chlorure de sodium à 9 g/l à un volume de 20 ml/kg/jour (c'est à dire 10 ml/kg/administration, 2 fois par jour 20 à environ 10 heures d'intervalle) par voie orale pendant 5 jours consécutifs (jours 1 à 5) (groupe témoin). 36 animaux supplémentaires dans les groupes CPT-11 et CPT-11/NaCl sont utilisés pour la détermination des concentrations plasmatiques de CPT-11 et de son principal métabolite, le SN-38.

La mortalité et les signes cliniques sont observées tous les jours. Le poids corporel est 25 mesuré aux jours 1, 3, 6 et 8. Les prélèvements de plasma pour l'analyse toxicocinétique sont réalisés aux jours 1 et 5. Les souris sont euthanasiées et autopsierées au jour 8. Les poids relatifs et absolus du thymus, de la rate et des testicules sont mesurés et le tractus gastrointestinal complet, la moelle osseuse

sternale, le thymus, la rate, les testicules et les épididymes sont prélevés sur toutes les souris et soumis à un examen microscopique.

Les concentrations plasmatiques maximales (Cmax) et les aires sous la courbe (AUC) mesurées pour le CPT-11 et le SN-38, son principal métabolite, sont identiques pour 5 les animaux des groupes CPT-11 et CPT-11/ $\text{NaCl}$  aux jours 1 et 5.

La mortalité liée à l'administration de CPT-11 observée aux jour 8 est observée chez 1/10 animal dans le groupe CPT-11/ $\text{NaCl}$ . Les diminutions d'activité motrice et les difficultés respiratoires liées à l'administration de CPT-11 sont observés de manière occasionnelle après l'administration de CPT-11 dans les groupes CPT-11 et CPT-10 11/ $\text{NaCl}$  avec une sévérité supérieure dans le groupe CPT-11/ $\text{NaCl}$ . Des pertes de poids corporel identiques sont observées dans les groupes CPT-11 et CPT-11/ $\text{NaCl}$  pendant la durée du traitement avec le CPT-11 et persistent après la fin du traitement.

Les lésions microscopiques observées dans le thymus et l'intestin correspondent à celles attendues avec un agent anticancéreux. Les lésions microscopiques observées 15 dans le thymus des animaux des groupes CPT-11 et CPT-11/ $\text{NaCl}$  sont similaires et se caractérisent par une déplétion lymphoïde associée à une diminution du poids et de la taille de cet organe. Les lésions microscopiques intestinales prédominent dans l'intestin grêle pour les groupes CPT-11 et CPT-11/ $\text{NaCl}$  et se caractérisent principalement par une perte de cryptes et une atrophie des villosités. Les lésions 20 intestinales sont moins sévères dans le groupe CPT-11/ $\text{NaCl}$  que dans le groupe CPT-11.

En conclusion, l'administration orale d'une solution isotonique de chlorure de sodium 9 g/l deux fois par jour à 10 ml/kg/administration (20 ml/kg/jour) pendant l'administration intraveineuse de CPT-11 pendant 5 jours ne modifie pas l'exposition 25 systémique au CPT-11 et au SN-38, ne module pas la toxicité thymique du CPT-11 mais réduit sélectivement la sévérité des lésions intestinales induites par le CPT-11.

#### 1.4/ Etude IV

Evaluation de l'effet de l'administration orale d'une solution de chlorure de sodium sur l'activité antitumorale du CPT-11 administré par voie intraveineuse.

Des souris femelles C3H/HeN porteuses d'un adénocarcinome mammaire MA16/C  
5 implanté par voie sous cutanée au jour 1 sont séparés en deux groupes et reçoivent dans chacun des 2 groupes une injection intraveineuse (20 ml/kg) d'une solution aqueuse de CPT-11 dans du glucose à 5 % à la dose de 14,6 - 23,6 - 38,0 ou 61,3 mg/kg pendant 5 jours consécutifs du jour 6 au jour 10. Dans un groupe, les souris reçoivent en plus une solution aqueuse de chlorure de sodium à 9 g/l à un  
10 volume de 20 ml/kg/jour (c'est à dire 10 ml/kg/administration, 2 fois par jour à environ 10 heures d'intervalle) par voie orale pendant 10 jours consécutifs (jours 1 à 10) (groupe CPT-11/NaCl). Les animaux du second groupe ne reçoivent pas de chlorure de sodium à 9 g/l par voie orale (groupe CPT-11).

L'activité antitumorale du CPT-11 est évaluée à la dose maximale non toxique. Une  
15 dose produisant une perte de poids corporel de plus de 20% ou une incidence de mortalité liée à l'administration du CPT-11 de plus de 20% est considérée comme étant trop toxique. Les paramètres évalués inclus l'inhibition de la croissance tumorale (T/C) exprimée en pourcentage, le retard de croissance tumorale (T-C) et le nombre de cellules tumorales tuées ( $\text{Log tumor cell kill} = \text{T-C}/3,32 \times \text{temps de doublement tumoral}$ ). Une valeur de Log tumor cell kill de 0,7 correspond à une activité minimale alors qu'une valeur supérieure à 2,8 correspond à un niveau d'activité élevée.

Pour les animaux du groupe CPT-11, la dose maximale non toxique de CPT-11 est 23,6 mg/kg/day soit une dose totale cumulée de 118 mg/kg, la perte de poids corporel  
25 maximale est de 10% au jour 11 et la valeur de Log cell kill est 1,7. Pour les animaux du groupe CPT-11/NaCl, la dose maximale non toxique de CPT-11 est 38,0 mg/kg/jour soit une dose totale cumulée de 190 mg/kg, la perte de poids corporel maximale est de 14,1% au jour 12 et la valeur de Log cell kill est 2,3.

En conclusion, l'administration orale d'une solution isotonique de chlorure de sodium (9 g/l) à 10 ml/kg/administration 2 fois par jour (20 ml/kg/jour) pendant 5 jours avant, et pendant l'administration intraveineuse de CPT11 pendant 5 jours ne diminue pas l'activité antitumorale du CPT-11.

5    2/ Etude expérimentale chez le chien

Evaluation de l'effet protecteur d'une solution de chlorure de sodium administrée par voie orale sur la toxicité intestinale du CPT-11 par voie intraveineuse.

Six chiens femelle beagle (agées de 10 à 12 mois) sont séparés en deux groupes de 3 et reçoivent, dans chacun des 2 groupes, une injection intraveineuse unique (5 ml/kg à raison de 2 ml/minute) d'une solution aqueuse de CPT-11 dans du chlorure de sodium à 9 g/l à la dose de 20 mg/kg (environ 400 mg/m<sup>2</sup> de surface corporelle) au jour 6. Dans un groupe, les animaux reçoivent en plus une solution aqueuse de chlorure de sodium à 9 g/l à un volume de 20 ml/kg/jour (c'est à dire 10 ml/kg/administration, 2 fois par jour à environ 8 heures d'intervalle) par voie orale pendant 7 jours consécutifs (jours 1 à 7) (groupe CPT-11/NaCl) de 5 jours avant à 1 jour après l'administration de CPT11. Les animaux du second groupe ne reçoivent pas de chlorure de sodium à 9 g/l par voie orale (groupe CPT-11). Les animaux sont maintenus sans aucune administration pendant 2 jours après la dernière administration de chlorure de sodium à 9 g/l (jusqu'au jour 9).

- 20    La mortalité et les signes cliniques sont observées tous les jours. Le poids corporel est relevé durant la période de prétest et aux jours 5 et 9. Les animaux sont euthanasiées et autopsiées au jour 9. Des échantillons représentatifs des tissus prélevés dans le tractus gastrointestinal sont prélevé sur tous les animaux et soumis à un examen microscopique.
- 25    Les effets liés à l'administration du CPT-11 durant la période de traitement comprennent de la salivation, de l'agitation, des vomissements (pendant ou immédiatement après l'administration de CPT-11), des diarrhées et une légère perte de poids. L'observation du gros intestin fait apparaître des rougeurs sur la muqueuse qui

sont plus fréquentes dans le groupe CPT-11 que dans le groupe CPT-11/NaCl. Les lésions observées résultent d'une altération primaire du compartiment prolifératif et consistent en une dégénérescence de la muqueuse, modérées à marquées dans le groupe CPT-11 et minimales à légères dans le groupe CPT-11/ NaCl.

- 5 En conclusion, l'administration intraveineuse d'une dose unique de CPT-11 à des chiens femelles à la dose de 20 mg/kg produit une toxicité gastro-intestinale compatible avec l'activité antimitotique du produit. L'administration orale d'une solution isotonique de chlorure de sodium (9 g/l) à 10 ml/kg/administration 2 fois par jour (20 ml/kg/jour) de 5 jours avant à 1 jour l'administration de CPT-11 prévient la  
10 survenue des lésions histopathologiques induites par le CPT-11.

REVENDICATIONS

- 1 - Utilisation de dérivés de la camptothécine pour la préparation de médicaments destinés aux traitements anticancéreux des cancers de la voie gastro-intestinale, provoquant de moindres effets secondaires gastro-intestinaux, caractérisée en ce qu'une solution de chlorure de sodium est administrée pendant ou avant et pendant l'administration dudit médicament.  
5
- 2 - Utilisation de chlorure de sodium pour la préparation d'un agent destiné à diminuer ou supprimer les effets secondaires gastro-intestinaux induits par l'administration de dérivés de la camptothécine.
- 10 3 - Utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce que l'agent destiné à diminuer ou supprimer les effets secondaires gastro-intestinaux induits par l'administration de dérivés de la camptothécine est une solution aqueuse de chlorure de sodium.
- 15 4 - Utilisation selon l'une des revendications 1 ou 3, caractérisée en ce que la solution de chlorure de sodium a une concentration comprise entre 4 et 13 g/l.
- 5 - Utilisation selon la revendication 4, caractérisée en ce que la solution de chlorure de sodium a une concentration de 9 g/l.
- 20 6 - Utilisation selon l'une des revendications 1 ou 3, caractérisée en ce que la solution de chlorure de sodium est administrée à raison de 5 à 10 ml/kg/administration.
- 7 - Utilisation selon l'une des revendications 1 ou 3 à 6, caractérisée en ce que la solution de chlorure de sodium est administrée pendant ou avant et pendant l'administration du dérivé de la camptothécine.
- 25 8 - Utilisation selon l'une des revendications 1 ou 3 à 7, caractérisée en ce que la solution de chlorure de sodium est administrée par voie orale.

- 9 - Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le dérivé de la camptothécine est administré par voie injectable ou orale.
- 10 - Kit de présentation d'une formulation de dérivé de camptothécine et d'un agent à base de chlorure de sodium, destiné à diminuer ou supprimer les effets secondaires gastro-intestinaux induits par l'administration de dérivés de la camptothécine.  
5
- 11 - Kit de présentation selon la revendication 10, caractérisé en ce que l'agent à base de chlorure de sodium, destiné à diminuer ou supprimer les effets secondaires gastro-intestinaux induits par l'administration de dérivés de la camptothécine, est une solution aqueuse de chlorure de sodium.  
10

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte onal Application No  
PCT/FR 99/01916

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 A61K33/14

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 96 11005 A (ATLAS LEON T) 18 April 1996 (1996-04-18) page 17, line 5-12 ----	1-11
A	US 5 225 404 A (GIOVANNELLA BEPPINO C ET AL) 6 July 1993 (1993-07-06) column 5, line 57 - line 66 ----	1-11
A	WAGENER D.J.T. ET AL: "Phase II trial of CPT-11 in patients with advanced pancreatic cancer, an EORTC early clinical trials group study" ANNALS OF ONCOLOGY(ANN. ONCOL.), 6/2 (129-132), XP002104573 Netherlands page 130, column 1, paragraph 2 -----	1-11

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
23 November 1999	02/12/1999
Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Leherte, C

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 99/01916

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9611005	A 18-04-1996	AU	3684395 A	02-05-1996
US 5225404	A 06-07-1993	US	5552154 A	03-09-1996
		US	5652244 A	29-07-1997
		US	5889017 A	30-03-1999

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem → Internationale No  
PCT/FR 99/01916

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 7 A61K33/14

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)  
CIB 7 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 96 11005 A (ATLAS LEON T) 18 avril 1996 (1996-04-18) page 17, ligne 5-12 ---	1-11
A	US 5 225 404 A (GIOVANNELLA BEPPINO C ET AL) 6 juillet 1993 (1993-07-06) colonne 5, ligne 57 - ligne 66 ---	1-11
A	WAGENER D.J.T. ET AL: "Phase II trial of CPT-11 in patients with advanced pancreatic cancer, an EORTC early clinical trials group study" ANNALS OF ONCOLOGY(ANN. ONCOL.), 6/2 (129-132), XP002104573 Netherlands page 130, colonne 1, alinéa 2 ----	1-11

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

### \* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

23 novembre 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

02/12/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Leherte, C

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Dem → Internationale No

PCT/FR 99/01916

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9611005 A	18-04-1996	AU 3684395 A	02-05-1996
US 5225404 A	06-07-1993	US 5552154 A	03-09-1996
		US 5652244 A	29-07-1997
		US 5889017 A	30-03-1999